

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Pendekatan dan Jenis Penelitian

Adapun jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu termasuk dalam penelitian deskriptif kualitatif. Penelitian deskriptif kualitatif berusaha mendeskripsikan seluruh gejala atau keadaan yang ada, yaitu keadaan gejala menurut apa adanya pada saat penelitian dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis-jenis bakteri pada lindi di TPST 3R Mulyoagung Bersatu. Data hasil penelitian akan dianalisis dan dimanfaatkan sebagai kajian implementasi sumber belajar biologi berupa booklet pada materi pembelajaran biologi SMA kelas X semester gasal tentang *Archaeobacteria* dan *Eubacteria*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Adapun tempat penelitian yaitu bertempat di TPST 3R Mulyoagung Kecamatan Dau Kabupaten Malang, dan identifikasi bakteri dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Malang dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.

3.2.2 Waktu Penelitian

Adapun waktu penelitian yang digunakan adalah 13 September 2018 di TPST 3R Mulyoagung Bersatu Kecamatan Dau Kabupaten Malang, Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Malang dan Laboratorium

Mikrobiologi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.

3.3 Populasi dan Teknik Sampling

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah lindi pada TPST 3R Mulyoagung Bersatu Kecamatan Dau Kabupaten Malang.

3.3.2 Teknik Sampling

Teknik sampling penelitian ini adalah teknik *Purposive Sampling*. Peneliti menentukan pengambilan sampel dengan cara menetapkan ciri-ciri khusus yang sesuai dengan tujuan penelitian sehingga diharapkan dapat menjawab permasalahan penelitian.

3.3.3 Sampel

Sampel penelitian ini adalah lindi yang diambil pada TPST 3R Mulyoagung Bersatu Kecamatan Dau Kabupaten Malang. Sampel yang diambil sebanyak 250 ml dengan menggunakan gayung dan dituang ke dalam botol sampel.

3.4 Definisi Operasional Variabel

Agar tidak terjadi kesalahan makna dalam tiap variabel maka perlu didefinisikan tiap variabel yang digunakan dalam penelitian ini. Adapun definisi operasional variabel tersebut, yaitu:

- 1) Identifikasi bakteri pada lindi menggunakan beberapa uji yaitu uji morfologi koloni bakteri, uji fisiologis bakteri, uji biokimia dan hasil

dariuji tersebut disesuaikan dengan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, sehingga mendapatkan spesies bakteri.

- 2) Lindi yang diambil berasal dari tumpukan sampah di TPST 3R Mulyoagung Bersatu Kecamatan Dau Kabupaten Malang
- 3) Kajian implementasinya disesuaikan dengan materi pembelajaran biologi SMA kelas X semester gasal tentang *Archaeobacteria* dan *Eubacteria*.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Tahap Persiapan Penelitian

Persiapan alat dan bahan penelitian. Adapun alat dan bahan penelitian sebagai berikut:

- 1) Alat
 - a) Laminar Air Flow (1 buah)
 - b) Jarum Ose (3 buah)
 - c) Cawan Petri (11 buah)
 - d) Tabung Reaksi (6 buah)
 - e) Beaker Glass (2 buah)
 - f) Rak Tabung Reaksi (1 buah)
 - g) Botol Semprot (1 Buah)
 - h) Inkubator (1 buah)
 - i) Botol Sampel (1 Buah)
 - j) Botol Aquadest (1 buah)
 - k) Vortex (1 buah)
 - l) Autoclave (1 buah)

- m) Kaca benda (5 buah)
- n) Kaca Penutup (5 buah)
- o) Mikroskop (1 buah)
- p) Hot plate (1 buah)
- q) Magnetic stirer (1 buah)
- r) Erlenmeyer (5 buah)
- s) Steaning jer (3 buah)

2) Bahan.

- a) Lindi (250 ml)
- b) Nutrien Agar (20 gram)
- c) Bunsen (2 buah)
- d) Plastik Warp (1 buah)
- e) Handscoon (10 pasang)
- f) Masker (6 pasang)
- g) Aquadest (1000 ml)
- h) Karet Gelang (1 pack)
- i) Alumunium Voil (1 buah)
- j) Spuit (6 buah)
- k) Safranin (0,25 gram)
- l) Kristal violet (0,4 gram)
- m)Lugol (1 gram)
- n) Alkohol 95% (150 ml)

3.5.2 Tahap Pelaksanaan Penelitian

3.5.2.1 Pengambilan Sampel Lindi

- 1) Lindi di TPST 3R Mulyoagung Bersatu Kecamatan Dau Kabupaten Malang
- 2) Lindi diambil 50 ml kemudian dimasukkan kedalam botol sampel
- 3) Sampel lindi dibawa ke Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Malang untuk pemurnian bakteri dan uji lanjutan.

3.5.2.2 Proses Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi terhadap alat dan bahan diawali dengan mencuci alat, dikeringkan dan bungkus dengan kertas buram. Sterilisasi media dengan cara memasukkan media yang sudah dibuat sebelumnya pada erlenmeyer dan ditutup aluminium foil. Tahap selanjutnya memasukkan alat dan bahan kedalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 15 psi (*per square inch*) selama 15 menit. Sterilisasi menggunakan alkohol 70% digunakan untuk alat yang tidak tahan terhadap panas dan tekanan.

3.5.2.3 Proses Pembuatan Media Agar (Nutrient Agar)

Adapun proses pembuatan media agar menurut Cahyani (2014) sebagai berikut :

- a) Menimbang bubuk NA

perhitungan pembuatan nutrient agar (NA)

Kebutuhan aquades untuk 100 Cawan petri,

$$= \text{Banyak cawan} \times \text{Volume Media setiap cawan}$$

$$= 10 \times 15 = 150 \text{ ml}$$

Kebutuhan NA untuk 10 cawan petri,

$$\begin{aligned}\text{Kebutuhan NA} &= \text{ml} / 1000 \times \text{standar NA} \\ &= 150 / 1000 \times 28 \\ &= 4200 / 1000 = 4,2 \text{ g}\end{aligned}$$

- b) Menambahkan aquadest steril pada bubuk NA sesuai dengan kebutuhan
- c) Merebus dan mengaduk larutan NA hingga tercampur menggunakan magnetik stirer
- d) Mendinginkan hasil larutan NA
- e) Mensterilisasi media ke dalam autoklaf
- f) Menuangkan media pada cawan petri sebanyak 15 ml.
- g) Membiarkan suspensi padat dan menyimpannya kedalam inkubator selama 24 jam.

3.5.2.4 Pengenceran Sampel Lindi

Adapun proses pengenceran menurut Cahyani (2014) sebagai berikut :

- a) Memasukkan 1 ml lindi ke dalam 9 ml aquadest, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex (proses pengenceran 10^{-1})
- b) Mengambil 1 ml larutan hasil pengenceran 10^{-1} dan memasukkan ke dalam 9ml aquadest, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex (proses pengenceran 10^{-2})
- c) Mengambil 1 ml larutan hasil pengenceran 10^{-2} dan memasukkan ke dalam 9ml aquadest, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex (proses pengenceran 10^{-3})

- d) Mikroba diisolasi ke dalam media NA dengan cara mengambil larutan pengenceran 10^{-1} dan menggoreskan pada media NA didalam cawan petri
- e) Mengisolasi mikroba sampai pengenceran 10^{-3}
- f) Isolat diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C

3.5.2.5 Pembiakan Bakteri

Koloni bakteri yang tumbuh pada media merupakan bakteri yang hidup pada lindi. Masing-masing koloni yang berbeda diambil dengan jarum ose dan ditumbuhkan pada medium NA lagi agar diperoleh biakan murni sehingga memudahkan tahap identifikasi selanjutnya. Proses ini dapat dilakukan berkali-kali untuk mendapatkan koloni bakteri murni. Koloni yang terbentuk setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C diamati pertumbuhan dan karakteristik koloni bakteri sehingga dapat digunakan untuk proses pewarnaan gram dan uji biokimia (Cahyani, 2014).

3.5.2.6 Pengujian Sampel Bakteri

Pengujian sampel bakteri dilakukan dengan beberapa uji, yaitu uji morfologi bakteri, uji fisiologis bakteri, dan uji biokimia bakteri.

1) Uji Morfologi Bakteri

Uji morfologi bakteri dilakukan dengan cara pemurnian koloni bakteri dan pengamatan makroskopis koloni bakteri sehingga dapat mengetahui bentuk koloni bakteri, tepi koloni bakteri, dan warna koloni bakteri (Fitri & Yasmin, 2011).

2) Uji Fisiologis Bakteri (Pewarnaan Gram)

Uji fisiologis bakteri dilakukan dengan metode pewarnaan gram sehingga dapat mengetahui bentuk sel bakteri, warna sel bakteri, dan sifat gram bakteri (Fitri & Yasmin, 2011).

3) Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan untuk mengetahui sifat-sifat fisiologis bakteri hasil isolasi. Hasil pengujian dimasukkan dalam daftar pengamatan (*Discriptive chart*) dan disesuaikan dengan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Buku tersebut memuat semua sifat-sifat bakteri yang telah dikenal.

3.6 Metode Pengumpulan Data

Metode pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan dengan uji laboratorium.

3.7. Teknik Analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan deskriptif kualitatif yang dilaporkan dalam bentuk tabel, gambar, penjelasan dan penarikan kesimpulan.

3.7.1 Instrumen Teknik Analisis Data

Instrumen Pengamatan Makroskopik Morfologi Koloni Bakteri

No	Gambar	Bentuk Koloni	Tepi Koloni	Warna Koloni	Nama Spesies

Instrumen Pewarnaan Gram

No	Gambar	Bentuk Sel	Warna Sel	Sifat Gram	Nama Spesies

Instrumen Uji Biokimia

Uji Biokimia	1	2	3	4	5	6
Motilitas						
Katalase						
Lysin						
H ₂ S						
Glukosa						
ONPG						
Indole						
MR						
VP						
Citrat						
TSIA						
Spesies						

3.7.1.1 Deskripsi

Deskripsi hasil penelitian dan disesuaikan dengan literatur masing-masing bakteri yang ditemukan.

